ПАРАЗИТОЛОГИЯ, VIII, 2, 1974

УДК 595.771

ОБ АКТИВИЗАЦИИ ПОКОЯЩИХСЯ СПОРАНГИЕВ ЭНТОМОПАТОГЕННОГО ГРИБА COELOMOMYCES MILKOI В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

А. М. Дубицкий, Н. Д. Дешевых и Р. В. Андреева

Институт зоологии АН КазССР, Алма-Ата

В лабораторных условиях проводились эксперименты по выяснению факторов, влияющих на активизацию высушенных и невысушенных покоящихся спорангиев гриба Coelomomyces milkoi, отличающегося высокой патогенностью к слепням *Tabanus autumnalis* и *Chrysops relictus*. Активизация залитых водой высушенных и невысушенных спорангиев и выход из них зооспор происходили при температурах от 10 до 40°. Оптимальным условием для выхода зооспор явилась температура 25—30°. Зооспоры выходили из высушенных спорангиев, залитых водой после 1—3-летнего хранения в лабораторных условиях.

До последнего времени считалось, что энтомопатогенные грибы рода Coelomomyces являются в большинстве случаев специфическими паразитами кровососущих комаров. Но недавно один из грибов этого рода обнаружен у личинок слепней *Tabanus autumnalis* и *Chrysops relictus* (Коваль и Андреева, 1971). Жизненный цикл гриба C. milkoi не известен.

Цель настоящей работы — выяснение вопроса сохраняемости покоящихся спорангиев этого гриба в высушенном состоянии и выхождения зооспор из высушенного и невысушенного материалов. В связи с этим большой интерес представляют сведения об условиях активизации покоящихся спорангиев энтомопатогенного гриба Coelomomyces milkoi, отличающегося высокой патогенностью к слепням *T. autumnalis* и *Ch. relictus.*

Для проведения экспериментальных работ использовали невысушенные и высушенные спорангии энтомопатогенного гриба C. milkoi, взятые из погибших личинок слепней *T. autumnalis* IV стадии. Материал собран Р. В. Андреевой (Институт зоологии АН УССР) и передан нам в виде живых и погибших особей. Среди них находились личинки, собранные в 1970, 1971 и 1972 гг. Опыты по наблюдению за выходом зооспор из покоящихся спорангиев проводили по методике Коуча (Couch, 1967) в нашей модификации. Высушенные спорангии заливали водопроводной водой и помещали в камеры политермостата с температурами 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 и 55°. Аналогичные варианты экспериментов проводили и с невысушенными спорангиями. Определение количества спорангиев с вышедшими и невышедшими зооспорами проводили путем выведения средних показателей при подсчете в трех полях зрения микроскопа (9×10). Наблюдения за выхождением зооспор из спорангиев проводили через каждые 2 дня в течение одного месяца.

Спорангии освобождаются при разложении тканей погибших хозяев. Они активизируются асинхронно, что, вероятно, связано с сохранением их во внешней среде. Выход зооспор отмечается только при попадании спорангиев в воду при благоприятной температуре, что само по себе является первыми активизирующими факторами. На следующий день внутреннее содержимое их становится зернистым. В зависимости от температурного режима сквозь оболочку становятся видны движущиеся внутри зооспоры. Внешняя оболочка разрывается с образованием щели, через которую чаще всего вначале выпячивается внутренняя тонкая оболочка. Разрыв внешней оболочки может происходить одновременно в двух местах. В этот период зооспоры движутся очень быстро и хаотично как внутри спорангия, так и внутри этого выпячивания. Затем внутренняя тонкая оболочка разрывается и зооспоры в течение 5—10 минут покидают спорангий. Отмечено, что зооспоры из спорангиев могут выходить и без выпячивания внутренней тонкой оболочки непосредственно через образовавшуюся щель. В одном спорангии содержится до 200 зооспор. После их выхождения внутри спорангиев остаются обрывки оболочки и похожие на жировые капли включения.

Таким образом, процесс выхода зооспор гриба C. milkoi из покоящихся спорангиев в основном сходен с процессом выхождения зооспор из покоящихся спорангиев грибов этого рода, паразитирующих у кровососущих комаров (De Meillon and Muspratt, 1943; Muspratt, 1946; Couch and Dodge, 1947; Couch, 1967).

Наблюдениями установлено, что температурный режим является одним из основных факторов, способствующих активизации спорангиев. Из табл. 1 видно, что при залитии водой высушенных и невысушенных спорангиев выхождение из них зооспор происходит при температуре от 10 до 40°. Оптимальными условиями для выхода зооспор из спорангиев являются температуры 25—30°. При температурах 10, 15, 20, 35 и 40° процент спорангиев с вышедшими зооспорами как в высушенном, так и невысушенном материалах ниже. При температурах 45 и 55° спорангии не активизировались, но при перемещении их после этого в камеру политермостата с температурой 25° в высушенном и невысушенном материалах начинался выход зооспор, что говорит о сдерживающем влиянии высоких температур. Сам по себе факт отсутствия гибели покоящихся спорангиев при довольно высоких температурах говорит о чрезвычайной устойчивости этого гриба к влиянию факторов внешней среды.

Таблица 1

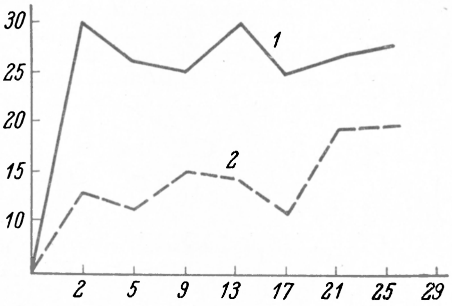
Результаты наблюдений за выхождением зооспор из покоящихся спорангиев энтомопатогенного гриба Coelomomyces milkoi в зависимости от температуры (при учете на три поля зрения)

Температурный режим (в °С)	Высушенные		Невысушенные	
	среднее число просмотренных	средний процент с вышедшими зооспорами	среднее число просмотренных	средний процент с вышедшими зооспорами
10	29	3.6	21	10.41
15	48	1.7	33	4.14
20	54	1.64	22	6
25	13	14.15	25	27.5
30	30	6.3	36	16.16
35	53	1.54	45	2.22
40	30	1.11	97	1.25
45	45	0	300	0
55	63	0	74	0

Сроки массового выхода зооспор из залитых водой высушенных и невысушенных спорангиев не синхронны, а значительно растянуты. Из рисунка видно, что в оптимальных условиях ход массового выхождения зооспор из спорангиев в высушенном и невысушенном материалах имеет вид трехвершинной кривой. Незначительный процент выхода зооспор из спорангиев начинается на другой день после залития их водой. Наиболее массовое выхождение зооспор из спорангиев происходило на 2-й, 9-й и 25-й день (высушенный материал) и на 2-й и 13-й день (невысушенный материал). Графические полигоны сроков массового выхода зооспор из залитых водой высушенных и невысушенных спорангиев весьма похожи с той лишь разницей, что второй пик массового выхода зооспор из высушенного материала сдвинут на 4 дня раньше. В этом материале процент спорангиев с вышедшими зооспорами несколько ниже, чем в невысушенном, что объясняется, вероятно, их гибелью при высушивании.

Освещенность на активизацию спорангиев влияния не оказывала. Зооспоры из них выходили как при дневном освещении, так и без него.

С точки зрения инфекционности и возможности создания патогенного препарата вопрос о длительности сохранения спорангиев в высушенном виде имеет большое значение. В наших опытах выход зооспор отмечался из материала 1—3-летней давности (табл. 2), но несколько отличался по процентам. При прочих равных условиях количество активизировавшихся спорангиев с каждым прошедшим годом несколько уменьшалось, что объясняется, вероятно, их гибелью при длительном высушивании.



Результаты наблюдений за сроками массового выхода зооспор из залитых водой покоящихся спорангиев энтомопатогенного гриба Coelomomyces milkoi при температуре 25° в трех полях зрения.

1 — невысушенные покоящиеся спорангии; *2* — высушенные покоящиеся спорангии. *По оси абсцисс* — дни наблюдений, *по оси ординат* — процент спорангиев с вышедшими зооспорами.

Таким образом, исходя из проведенных экспериментов можно заключить, что покоящиеся спорангии энтомопатогенного гриба C. milkoi могут в течение длительного времени сохраняться во внешней среде в высушенном состоянии и при высоких (до 55°) температурах. Оптимальными условиями для выхода зооспор из спорангиев является температура около 25°. Процент спорангиев с вышедшими зооспорами понижается при температуре 35—40°. В невысушенном материале он выше, чем в высушенном. При температуре 45 и 55° спорангии не активизировались, но при перемещении их в оптимальные условия из них происходил выход зооспор.

Таблица 2

Результаты наблюдений за выходом зооспор из залитых водой покоящихся спорангиев энтомопатогенного гриба Coelomomyces milkoi разных лет в зависимости от температуры (при учете на три поля зрения)

Температурный режим (в °С)	1970 г.		1971 г.		1972 г.	
	среднее число просмотренных	средний процент с вышедшими зооспорами	среднее число просмотренных	средний процент с вышедшими зооспорами	среднее число просмотренных	средний процент с вышедшими зооспорами
20	54	1.64	46	2.44	32	4
25	25	2	35	4.1	13	14.5
30	37	2.61	92	1.59	30	6.3
35	53	1.54	78	1.75	29	6
40	33	1.11	39	1.5	30	5.66
45	45	—	37	—	37	—
55	63	—	27	—	40	—

Полученные результаты освещают лишь некоторые черты биологии этого гриба. Дальнейшее изучение его биологических свойств поможет организовать целенаправленную борьбу с массовыми видами слепней.

Литература

Коваль Е. З. і Андреева Р. В. 1971. До вивчення патогенної мікофлори гедзів (Diptera, Tabanidae) на Україні. Доповіді Академії Наук Української ССР, серия Б. Геологія, геофізика, хімія та біологія, Київ, 11 : 1042—1044.

Couch J. N. 1967. Sporangial germination of Coelomomyces punctatus and the conditions favoring the infection of Anopheles quadrimaculatus under laboratory conditions. Proceeding of the joint U. S.—Japan Seminar on Microbiol. Control of Insect Pests, Fukuoka, April : 21—23.

Couch J. N. and Dodge H. R. 1947. Further observations on Coelomomyces, parasitic on mosquito larvae. J. Elisha Mitchell Sci. Soc., 63 : 69—79.

De Meillon B. and Muspratt J. 1943. Germination of the sporangia of Coelomomyces Keilin. Nature, 152 : 507.

Muspratt J. 1946. Experimental infection of the larvae of Anopheles gambiae (Diptera, Culicidae) with a Coelomomyces fungus. Nature, 158 : 202.

ON ACTIVATION CONDITIONS OF RESTING SPORANGIA OF COELOMOMYCES MILKOI UNDER LABORATORY CONDITIONS

A. M. Dubitzky, N. D. Deshevykh and R. V. Andreeva

SUMMARY

Laboratory tests were undertaken to ascertain the factors affecting the activation of dried and non-dried sporangia of Coelomomyces milkoi noted for high pathenogenicity to *Tabanus autumnalis* and *Chrysops relictus.* The activation of dried and non-dried sporangia poured with water and the emergence of zoospores from them carried out at a temperature of 10 to 40°. A temperature of 25 to 30° created optimal conditions for zoospore emergence. Zoospores emerged from dried sporangia poured with water after one to three year maintenance under laboratory conditions.